

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.01.017

3 项指标联合检测对儿童原发传染性单核细胞增多症的诊断价值

张善虎

山东省聊城市莘县人民医院检验科, 山东聊城 252400

摘要:目的 探讨血浆人类白细胞抗原 G(HLA-G)、可溶性白细胞抗原 G(sHLA-G)、EB 病毒(EBV)-DNA 载量对儿童原发传染性单核细胞增多症(IM)的诊断价值。方法 将 60 例 IM 患儿作为观察组,并以同期非 IM 的发热儿童 60 例作为对照组。检测并比较两组血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量及联合检测对儿童 IM 的诊断效能。结果 观察组血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);ROC 曲线分析显示血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量联合检测诊断儿童 IM 的曲线下面积(0.958)高于 HLA-G(0.886)、sHLA-G(0.789)、EBV-DNA 载量(0.904)单项检测。结论 血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量水平可作为诊断儿童 IM 的重要指标,联合检测的特异度和准确度更高。

关键词:人类白细胞抗原 G; 可溶性白细胞抗原 G; EB 病毒-DNA; 传染性单核细胞增多症; 儿童

中图分类号:R725.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)01-0066-03

The diagnostic value of three indicator combined detection on primary infectious mononucleosis in children

ZHANG Shanhu

Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Shen County,
Liaocheng, Shandong 252400, China

Abstract:Objective To study the diagnostic value of plasma human leukocyte antigen G (HLA-G), soluble leukocyte antigen G (sHLA-G), Epstein-Barr virus-DNA (EBV-DNA) load on primary infectious mononucleosis (IM) in children. **Methods** A total of 60 children with primary IM were selected in observation group, and 60 non-IM children with fever in the same period were selected in the control group. The expression of plasma HLA-G, sHLA-G, EBV-DNA load in two groups were detected, and the diagnostic value of the primary IM in children was analyzed by ROC. **Results** The plasma HLA-G, sHLA-G, and EBV-DNA load in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of combined detection of plasma HLA-G, sHLA-G, EBV-DNA load for diagnosis of IM (0.958) was higher than HLA-G (0.886), sHLA-G (0.789), and EBV-DNA load (0.904). **Conclusion** Plasma HLA-G, sHLA-G and EBV-DNA load could be used as important indicators for the diagnosis of IM in children. The combined detection has higher specificity and accuracy.

Key words: human leukocyte antigen G; soluble leukocyte antigen G; Epstein-Barr virus-DNA; infectious mononucleosis; children

原发传染性单核细胞增多症(IM)是一种由于 EB 病毒(EBV)感染所致的以急性、亚急性单核-巨噬细胞增多为主要特征的全身免疫异常性疾病,多发于学龄前儿童,患儿可出现发热、咽峡炎、淋巴结肿大、肝脾肿大等临床症状,血液中常出现异常淋巴细胞升高^[1]。由于该病临床症状缺乏特异性,加上较多患儿仅有上呼吸道感染症状,因此,极易被误诊。临床上,通常通过检测 EBV 相关抗体对该病进行诊断,由于儿童自身机体免疫系统尚未发育完全,难以诱导免疫系统产生抗体,再加上异嗜性抗体的干扰等因素,均

可导致检测结果出现假阳性^[2-3]。EBV-DNA 作为 EBV 存在的直接证据,近年来也有学者发现其在早期诊断 IM 中具有重要意义^[4]。血浆人类白细胞抗原 G(HLA-G)、可溶性白细胞抗原 G(sHLA-G)作为机体重要的免疫抑制分子,在遭受到病毒感染后,可在血浆中发生持续表达,对病毒逃逸宿主免疫系统具有重要的监视作用,和免疫反应之间有复性调节作用^[5]。但目前关于 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量用于 IM 患儿的诊断价值报道较少,本研究拟探讨这 3 项指标与 IM 之间的关系,为临床诊断 IM 提供参考依

据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 11 月至 2017 年 11 月本院确诊的 60 例 IM 患儿作为观察组,纳入标准:(1)符合 IM 诊断标准^[6],并通过临床症状、血常规、异型淋巴细胞计数等检查确诊,(2)年龄 3 个月至 3 岁;(3)近半年无病毒感染史;(4)患儿家属对本研究知情同意。选取同期本院收治的非 IM 发热患儿 60 例作为对照组,所有研究对象的监护人均知情同意。所有研究对象排除标准:(1)先天性畸形者;(2)脏器功能严重障碍者;(3)恶性肿瘤者;(4)入组前接受过相关治疗;(5)无法配合本研究涉及检查者;(6)资料不全者。研究组中男 35 例、女 25 例,平均(1.97±0.34)岁,对照组中男 28 例、女 32 例,平均(2.04±0.31)岁,两组患儿性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 于治疗前采集患儿静脉血 5 mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,混匀后静置 30 min,室温下以相对离心力 2 600×g 离心 10 min,分离血浆,置于冷冻箱内保存。

1.2.2 血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量检测 采用 ELISA 检测血浆 HLA-G、sHLA-G 水平,试剂盒均购于武汉默沙克生物科技有限公司。EBV-DNA 载量检测使用实时荧光定量 PCR,试剂盒购于中山大学达安基因股份有限公司。所有操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量的诊断效能。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量比较 观察组血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	HLA-G (U/mL)	sHLA-G (U/mL)	EBV-DNA 载量 (copy/mL)
观察组	60	32.12±5.69	121.84±17.41	(7.38±1.02)×10 ⁷
对照组	60	5.84±1.05	18.31±3.45	(1.23±0.24)×10 ⁷
<i>t</i>		35.182	45.183	45.462
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

2.2 血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量对 IM 的诊断价值 ROC 曲线分析显示,血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量联合检测诊断儿童 IM 的曲线下面积(AUC)(0.958)大于 HLA-G(0.886)、sHLA-G(0.789)和 EBV-DNA 载量(0.904)。见表 2、图 1。

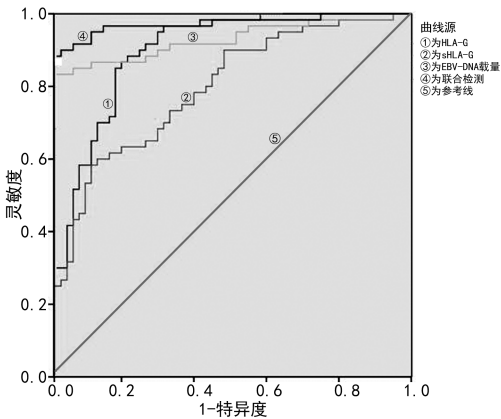


图 1 血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量单独检测和联合检测诊断 IM 的 ROC 曲线

表 2 3 项指标单独检测和联合检测对 IM 的诊断价值

项目	最佳临界值	灵敏度(%)	特异度(%)	准确度(%)	AUC(95%CI)	<i>P</i>
HLA-G	11.20 U/mL	80.34	78.39	81.39	0.886(0.828~0.948)	<0.000 1
sHLA-G	30.85 U/mL	76.19	75.19	80.89	0.789(0.710~0.869)	<0.000 1
EBV-DNA 载量	2.4×10 ⁷ copy/mL	82.40	73.64	85.40	0.904(0.874~0.934)	<0.000 1
联合检测	—	75.19	89.90	91.41	0.958(0.936~0.975)	<0.000 1

注:—表示无数据。

3 讨 论

EBV 属于人疱疹病毒 4 型,是导致 IM 的重要病原体,有数据显示,全国感染 EBV 的人群超过 90%,而我国 EBV 所引发的 IM 主要集中于青少年或儿童^[7]。在原发感染 EBV 后,多数患儿仅有发热表现,而造成患儿发热的因素较多,包括细菌、病毒感染等,

极少部分患儿有咽峡炎、淋巴结肿大、肝脾大等典型表现,由于该病的临床症状复杂多样,常会累及多个组织器官,临床上漏诊率、误诊率均较高,极易导致患儿错过最佳治疗时间,因此,早期确诊该病,并及时采取治疗措施对提高预后十分重要。

目前,对于该病的实验室诊断仍以 EBV 抗体为

主,虽然可动态反映 EBV 感染后的抗体水平,但 EBV 感染后血清学反应表现形式复杂,部分病例抗 VCA-IgA 可出现延迟,难以准确地反映 EBV 感染的实时情况。由于 EBV 在感染初期可进行 DNA 复制,因此,有学者提出通过荧光定量 PCR 技术对病毒核酸进行检测,以更有效地反映是否感染 EBV 和病毒复制情况^[8-9]。但随着研究不断深入,学者们发现,在部分病例中,EBV-DNA 载量和 EB VCA-IgA 的诊断结果存在一定差异,并指出单一检测 EBV-DNA 载量在诊断 IM 中准确度、特异度较低,而选择特异度较高的指标与其联合检测对诊断准确度的提高具有积极意义^[10]。

近年来,有报道证实 HLA-G 和 T 细胞上的抑制性受体、NK 细胞对免疫细胞的杀伤活性具有抑制作用,可促进长期的免疫耐受和逃避,而病毒诱导机体所产生的 HLA-G 被认为是其逃逸免疫系统杀伤的一种重要机制^[11-12]。随着研究的不断深入,VALLE 等^[13]报道指出,HLA-G 胞质尾部可抵抗 Nef 所诱导的下调和胞内聚集,在人类免疫缺陷病毒感染中发生着重要作用。ESKANDARI 等^[14]研究也发现,人类免疫缺陷病毒感染者体内 HLA-G 可存在于 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞及单核细胞之中,且在长期处于活动期患者的血浆中 HLA-G 表达明显升高,而长期处于稳定的血浆中并无 HLA-G 的表达。

本研究发现 IM 患儿的血浆 HLA-G 及 sHLA-G 表达明显高于其余单纯发热的患儿。谢付静等^[15]的研究也显示,在 IM 患儿中,血浆 HLA-G 明显升高,且在辅助诊断疾病中具有积极意义,和本研究具有一定相似性。机体在受到 EBV 感染后,病毒进入细胞,通过自身特定抗原的表达,干扰着机体的正常免疫机制,而 HLA-G 及 sHLA-G 也对 T 细胞具有抑制作用,可减少 T 细胞的增殖,影响细胞免疫功能,三者可通过相互协同作用,导致 IM 的发生。

本研究结果显示,血浆 HLA-G、sHLA-G、EBV-DNA 载量对儿童 IM 具有较好的诊断价值(AUC 分别为 0.886、0.789、0.904),且三者联合检测的诊断价值更高(AUC 为 0.958)。综上所述,血浆 HLA-G、sHLA-G 和 EBV-DNA 载量在 IM 患儿中明显升高,且联合检测有助于提高诊断特异度、准确度,本研究也为今后早期诊治 IM 提供了新思路。

参考文献

- [1] 张会超,陈砚凝,黄晨,等. 传染性单核细胞增多症的临床病理学特征及免疫表型分型[J]. 临床与实验病理学杂志,2017,33(7):763-768.
- [2] SALGADO C, GARCIA A M, RUBIO C, et al. Infectious

mononucleosis and cholestatic hepatitis: a rare association[J]. Acta Med Port, 2017, 30(12):886-888.

- [3] 龙彦,刘畅,孙媛媛,等. EB 病毒急性感染的实验室血清学诊断方法研究[J]. 中国全科医学, 2015, 18(5): 582-584.
- [4] BANKO A, LAZAREVIC I, STEVANOVIC G, et al. Analysis of the variability of Epstein-Barr virus genes in infectious mononucleosis: investigation of the potential correlation with biochemical parameters of hepatic involvement[J]. J Med Biochem, 2016, 35(3): 337-346.
- [5] AKIN M, ARAL L A, YAVUZ A, et al. Plasma human leukocyte antigen-G (HLA-G) in patients with thyroid cancer[J]. Turk J Med Sci, 2017, 47(4): 1263-1266.
- [6] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社, 2015: 919.
- [7] NOOR M, SADOUGH M, CHAN S, et al. Splenic infarct in a patient with infectious mononucleosis: a rare presentation[J]. J Comm Hosp Intern Med Persp, 2017, 7(4): 248-250.
- [8] WEMEL A C, MAYET A, BELLIER S, et al. Severe infectious mononucleosis in immunocompetent adults[J]. Med Mal Infect, 2017, 47(8): 540-545.
- [9] POOREBRAHIM M, SALARIAN A, NAJAFI S, et al. Regulatory network analysis of Epstein-Barr virus identifies functional modules and hub genes involved in infectious mononucleosis[J]. Arch Virol, 2017, 162(5): 1299-1309.
- [10] KANO K, KATAYAMA T, TAKEGUCHI SHIORI, et al. Biopsy-proven case of Epstein-Barr virus (EBV)-associated vasculitis of the central nervous system[J]. Neuro-pathology, 2017, 37(3): 259-264.
- [11] 郭张燕,郑国旭,温伟红,等. HLA-G 调控自然杀伤细胞免疫功能的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(6): 841-844.
- [12] 陶微微,赵俊,王明丽. 人巨细胞病毒调控免疫逃逸相关基因的功能及其机制研究[J]. 微生物与感染, 2015, 10(2): 111-115.
- [13] VALL I, CAGGIARI L, MUSSOLIN L, et al. HLA-G + 3027 polymorphism is associated with tumor relapse in pediatric Hodgkin's lymphoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(62): 105957-105970.
- [14] ESKANDARI E, DAHMARDEH T, SAJDARI V, et al. HLA-G gene 14-bp deletion variant protects Iranian subjects against chronic hepatitis B infection[J]. Int J Immunogenet, 2017, 44(6): 322-327.
- [15] 谢付静,孙红娟,杨亚培,等. 血浆白细胞抗原 G, 白细胞介素 10 水平在传染性单核细胞增多症诊断中的价值[J]. 山东医药, 2017, 57(40): 95-96.

(收稿日期:2019-03-10 修回日期:2019-07-12)